PLATELIA™ VZV IgG

48 TESTS 72684

TROUSSE POUR LA DETECTION QUALITATIVE DES ANTICORPS IgG ANTI-VARICELLE DANS LE SERUM HUMAIN PAR METHODE IMMUNOENZYMATIQUE

IVD

SOMMAIRE

1. BUT DU DOSAGE

2. INTERET CLINIQUE

3. PRINCIPE DU TEST

4. COMPOSITION DE LA TROUSSE ET PREPARATION DES REACTIFS

5. CONSERVATION ET STABILITE DES REACTIFS

6. PRECAUTIONS D'UTILISATION

7. ECHANTILLONS

8. MODE OPERATOIRE

9. RESUME DU MODE OPERATOIRE

10. CRITERES DE VALIDATION DU TEST

11. INTERPRETATION DES RESULTATS

12. LIMITES DE LA METHODE

13. SPECIFICITE ANALYTIQUE

14. SENSIBLITE ET SPECIFICITE DIAGNOSTIQUES

15. PRECISION

16. EXPERTISE DES CAUSES D'ERREUR

17. REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. BUT DU DOSAGE

TROUSSE POUR LA DETECTION QUALITATIVE DES ANTICORPS IgG ANTI-VARICELLE DANS LE SERUM HUMAIN PAR TECHNIQUE IMMUNOENZYMATIQUE

2. INTERET CLINIQUE

La varicelle et le zona constituent deux manifestations cliniques d'une infection causée par le Virus VZV. La varicelle est une maladie très contagieuse, causée généralement par une infection primaire avec le VZV ; elle atteint souvent les enfants. Pendant la grossesse l'infection peut causer des malformations du fœtus ; si l'infection a lieu à la fin de la gestation, elle peut entraîner la mort du nouveau-né.
Le zona est une maladie qui touche surtout les adultes et semble être causé par la réactivation du virus. Celui-ci peut rester à l'état latent pendant de longues périodes dans les ganglions sensoriels spinaux à la suite de l'infection primaire. Cette infection se manifeste par des éruptions cutanées douloureuses le long des nerfs.
On utilise généralement les techniques sérologiques pour déterminer l'état immunitaire des sujets à risque (surtout les sujets immunodéprimés) et pour le diagnostic (pré ou post-natal) des sujets infectés par le VZV.

3. PRINCIPE DU TEST

Le test repose sur le principe de l'ELISA indirecte. L'antigène, constitué du virus VZV partiellement purifié et inactivé, est lié à la phase solide.
L'incubation du complexe antigène-anticorps avec des anticorps monoclonaux conjugués à la peroxydase permet de sélectionner les anticorps spécifiques de l'antigène. L'addition du substrat permet la révélation. On arrête la réaction enzymatique par l'addition d'une solution d'acide sulfurique. La couleur obtenue est proportionnelle à la quantité d'anticorps spécifiques dans le sérum et elle peut être lue avec un lecteur de microplaques.

4. COMPOSITION DE LA TROUSSE ET PREPARATION DES REACTIFS

- Le kit permet de réaliser 48 tests.

- Laisser les réactifs revenir à température ambiante avant utilisation.

MT PLATE *MICROPLAQUE - 3 x 2 barrettes sensibilisées avec le virus de la Varicelle*
Utilisation : Couper le sachet du côté opposé au code (ZG, suivi par le numéro du lot) qui sert pour son identification, sortir le support et les barrettes nécessaires du papier d'emballage, et placer les barrettes non utilisées dans le sachet en plastique avec le gel de silice; chasser l'air et fermer le sachet par pression sur la fermeture.

CONJ *CONJUGUE (1 x 10 ml)*
Composition : Anticorps monoclonaux anti-IgG marqués à la peroxydase, dans un tampon phosphate contenant 0.05 % de phénol et 0.02 % de bronidox.
Prêt à l'emploi.

CONTROL + *CONTROLE POSITIF (1 x 1.6 ml)*
Composition : Sérum humain dilué contenant une quantité connue d'anticorps IgG anti-Varicelle, dans un tampon phosphate à 0.01 mol/l avec 1 % de BSA et 0.09 % d'azide de sodium. Il se présente sous forme liquide, prêt à l'emploi sans autre dilution.
Couleur : La couleur est proportionnelle au titre en anticorps.

CONTROL CUT OFF *CONTROLE CUT OFF (1 x 2.0 ml)*
Composition : Sérum humain dilué contenant une quantité connue d'anticorps IgG anti-Varicelle, dans un tampon phosphate à 0.01 mol/l avec 1 % de BSA et 0.09 % azide de sodium. Il se présente sous forme liquide, prêt à l'emploi sans autre dilution.
Couleur : La couleur est proportionnelle au titre en anticorps.

CONTROL IgG - *CONTROLE NEGATIF IgG (PF93910) (1 x 1.6 ml)*
INTERCHANGEABLE ENTRE LOTS
Composition : Sérum humain dilué négatif en IgG anti-Varicelle dans un tampon phosphate à 0.01 mol/l avec 1 % de BSA et 0.09 % azide de sodium. Il se présente sous forme liquide, prêt à l'emploi sans autre dilution.

WASH BUF 10x *TAMPON DE LAVAGE 10X (PF93603) (1 x 100 ml)*
INTERCHANGEABLE ENTRE LOTS
Composition : Solution saline tamponnée, concentrée 10 fois ; contient 0.5 % de brij.
Préparation : Diluer au 1/10è avec de l'eau distillée pour obtenir un tampon de lavage prêt à l'emploi.
En présence de cristaux : chauffer la solution **à 37°C** pour les solubiliser puis réaliser la dilution.

SAMP DIL *DILUANT 2 (PF93611) 1 x 100 mL. Pour diluer les échantillons de sérum.* Prêt à l'emploi.
INTERCHANGEABLE ENTRE LOTS
Composition : Solution protéique, additionnée d'azide de sodium 0.09% et méthylorange comme colorant.

SUBS TMB *SUBSTRAT (PF93619) (1 x 15 ml).* Prêt à l'emploi.
INTERCHANGEABLE ENTRE LOTS
Composition : Tétraméthylbenzidine (à 0.26 mg/ml) et du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2 à 0.01 %) stabilisé dans un tampon citrate (à 0.05 mol/l). pH = 3.8.

H_2SO_4 0.3 M *SOLUTION D'ARRET (PF93602) (1 x 16 ml)* ***INTERCHANGEABLE ENTRE LOTS***
Composition : H_2SO_4 (à 0.3 mol/l) dans une solution prête à l'emploi.

SACHET EN POLYETHYLENE (1)
FEUILLES ADHESIVES (2)

MATERIEL NECESSAIRE MAIS NON FOURNI
- Incubateur à 37°C
- Lecteur de microplaques (équipé de filtres 450 et 620 nm)
- Laveur de microplaques (optionnel) capable de distribuer des volumes de 225-375 µl
- Eau distillée ou déionisée
- Verrerie normale de laboratoire (éprouvette, pipette, etc.)
- Micropipette pour le prélèvement précis de 10, 100, 1000 µl de solution
- Gants à usage unique
- Minuteur
- Solution 5% de sodium hypochlorite
- Récipients pour les matériaux potentiellement infectieux
- Papier absorbant

5. MODALITES DE CONSERVATION ET STABILITE DES REACTIFS

Les réactifs doivent être conservés à +2-8°C. La date de péremption est indiquée sur chaque flacon et sur l'étiquette externe du coffret.

Stabilité des réactifs après ouverture et/ou reconstitution :

REACTIF	**CONDITIONS**
MICROPLAQUE	5 semaines à + 2-8°C, dans le sachet en polythène
CONTROLES	5 semaines à + 2-8°C
CONJUGUE	5 semaines à + 2-8°C
SUBSTRAT	jusqu'à la date de péremption à + 2-8°C, 1 semaine à + 15-30°C, à l' obscurité
DILUANT	jusqu'à la date de péremption à + 2-8°C
TAMPON DE LAVAGE	prêt à l'emploi, 2 semaines à + 2-8°C, 5 jours à + 15-30°C
SOLUTION D'ARRET	jusqu'à la date de péremption à + 2-8°C

6. PRECAUTIONS D'UTILISATION

POUR USAGE DIAGNOSTIQUE IN VITRO.

ATTENTION : ***Ce coffret contient des matériaux d'origine humaine. Bien que tous les produits d'origine humaine aient subi un contrôle de dépistage négatif, concernant les anticorps anti-VIH 1 et 2, les anticorps anti-VHC et l'Ag HBs en utilisant des méthodes approuvées par la FDA, ils doivent cependant être manipulés comme des produits potentiellement infectieux.***

PRECAUTIONS DE SECURITE

1. Ne pas pipeter avec la bouche. Utiliser des gants à usage unique et des protections pour les yeux quand on manipule des échantillons et pendant le test. Se laver soigneusement les mains après les manipulations.
2. Les réactifs suivants contiennent de faibles concentrations en substances nocives ou irritantes :
   a) Le tampon de lavage contient des détergents
   b) Le conjugué contient du phénol
   c) Le substrat est acide
   d) Les contrôles contiennent de l'azide de sodium (0.09%). Les azides peuvent réagir avec les métaux des canalisations et donner des composés explosifs. Il est nécessaire de rincer abondamment avec de l'eau.

   Si un réactif vient à contact avec la peau ou les yeux, laver abondamment avec de l'eau.
3. Tout le matériel non jetable doit être stérilisé après utilisation, de préférence en autoclave pendant 1 heure à 121°C. Tout matériel jetable doit être auto clavé ou incinéré après utilisation.
4. L'acide sulfurique contenu dans la solution d'arrêt et l'acide chlorhydrique utilisé pour laver la verrerie est corrosif ; ces substances doivent être utilisées avec précaution. En cas de contact avec la peau ou les yeux, laver abondamment à l'eau.
5. Les matériaux liquides à jeter, neutralisés avec une solution alcaline, doivent être désinfectés avec le sodium hypochlorite en volume suffisant (concentration finale de 1% au moins). Un contact de 30 minutes avec cette solution est nécessaire pour garantir une décontamination efficace.
6. En cas de versement accidentel de matériaux potentiellement infectieux, essuyer immédiatement avec du papier absorbant et nettoyer le plan de travail avec, par exemple, de l'hypochlorure de sodium (1%), avant de continuer le test. En présence d'un acide, veiller à bien essuyer le plan de travail avant d'utiliser de l'hypochlorure de sodium. Tout matériel (notamment les gants) souillé par d'éventuelles éclaboussures doit être considéré comme potentiellement infectieux et éliminé selon la réglementation en vigueur.

PRECAUTIONS ANALYTIQUES

1. Laisser les réactifs et les échantillons revenir à température ambiante (+ 18-30°C) avant utilisati on. Immédiatement après utilisation, conserver les réactifs à la température de conservation recommandée. **Il est très important contrôler la température d'incubation des microplaques. Le thermostat ne doit pas descendre au-dessous de 35°C ni au-dessus de 39°C**. Laisser le sachet contenant les barrettes revenir à température ambiante pendant 30 minutes avant de l'ouvrir.
2. Ne pas utiliser les réactifs au-delà de la date de péremption. Eviter toute contamination microbienne des réactifs (les résultats pourraient en être affectés).
3. Ne pas modifier le mode opératoire indiqué, ni remplacer les réactifs par d'autres provenant de lots ou de fournisseurs différents (à moins que cela ne soit spécifié sur la notice d'utilisation. Se reporter au paragraphe « COMPOSITION DU COFFRET ET PREPARATION DES REACTIFS »). Ne pas réduire les temps d'incubation indiqués.
4. Toute verrerie utilisée dans le test doit être laver soigneusement avec l'acide chlorhydrique (2M) et rincée à l'eau distillée ou désionisée.
5. Ne pas exposer les réactifs à une forte lumière ni aux vapeurs d'hypochlorure pendant leur conservation ni pendant les phases d'incubation.
6. Eviter le dessèchement des puits pendant le test.
7. Eviter la contamination croisée entre les réactifs. Il est important d'utiliser des cônes différents pour chaque réactif.
8. Eviter de toucher ou d'éclabousser le bord du puit avec le conjugué. Ne pas souffler sur les microplaques.
9. Les dosages immunoenzymatiques présentent parfois un « effet de bord » ; cet effet peut être minimisé en augmentant l'humidité pendant les phases d'incubation. Les microplaques doivent être couvertes et incubées à 37°C soit dans un bain-marie, soit dans un incubateur, soit dans un analyseur adapté.Ne pas utiliser d'incubateurs à CO_2.
10. Avant de lire la microplaque, veiller à ce que le fond de la microplaque soit sec et propre et qu'il n'y ait aucune bulle d'air à la surface du liquide.

11. Les échantillons fortement hémolysés, les sérums incomplètement coagulés, ou les échantillons présentant une contamination microbienne peuvent entraîner des résultats erronés.
12. Lire attentivement le manuel d'utilisation des instruments utilisés ; en particulier, les chapitres concernant :
    - L'installation et les précautions spécifiques
    - Le principe, les instructions, les précautions et risques d'utilisation
    - Les spécifications du fabricant et les performances de l'instrument
    - La maintenance.

7. ECHANTILLONS

Les sérums frais ou décongelés peuvent être utilisés. Les échantillons frais peuvent être stockés à + 2-8℃ pendant 4 jours.
Pour un stockage plus long, congeler les sérums à – 20℃. Il ne faut pas les décongeler et recongeler plus de 3 fois. Les sérums décongelés doivent être bien agités avant l'usage. L'inactivation à chaleur peut causer des résultats erronés.
Les échantillons qui présentent une contamination microbienne peuvent fausser les résultats. Ceux qui sont fortement hémolysés, lipémiques, ictériques ou contaminés ne doivent pas être utilisés.

Ne pas utiliser de plasma humain.

8. MODE OPERATOIRE

- Préparer le nombre nécessaire de barrettes.
- Préparer la solution tamponnée de lavage :
  Diluer la solution **de lavage concentrée** au 1/10è (par exemple : 100 ml + 900 ml d'eau distillée).

Diluer les échantillons au 1/101è (10µl de sérum + 1 ml de diluant).
Prévoir un puit libre pour le calcul de la valeur de blanc du substrat.
Distribuer 100 µl de contrôles non dilués (1 contrôle négatif, 2 cut-off et 1 contrôle positif).
Distribuer 100 µl de chaque échantillon dilué dans les puits (on conseille d'effectuer l'analyse en double).
Couvrir les puits avec la feuille de protection pour éviter l'évaporation.
Incuber pendant 45 minutes à 37℃.
Procéder à 4 lavages (temps de trempage de 30 secondes, avec un volume minimum de 300 µl ± 75 µl) .
Ajouter 100 µl de conjugué (antigène/anticorps monoclonaux marqués à la peroxydase) dans chaque puits sauf le blanc.
Couvrir les puits avec la feuille de protection.
Incuber pendant 45 minutes à 37℃.
Laver la plaque encore 4 fois comme mentionné précédemment.
Distribuer 100 µl de substrat dans chaque puits.
Incuber 15 minutes à température ambiante.
Ajouter 100 µl de solution d'arrêt.
Lire la densité optique à 450 nm ou à 450/620 nm dans les 30 minutes.

9. RESUME DU MODE OPERATOIRE – Platelia™ VZV IgG

1ère étape	Distribuer 100 µl de sérums dilués et contrôles dans les puits
	Incuber pendant 45 minutes à 37°C
	Laver 4 fois avec la solution tamponnée de lavage diluée
2ème étape	Distribuer 100 µl de conjugué dans tous les puits sauf le blanc
	Incuber pendant 45 minutes à 37°C
	Laver 4 fois avec la solution tamponnée de lavage diluée
3ème étape	Distribuer 100 µl du substrat dans tous les puits
	Incuber pendant 15 min. à T.A.
4ème étape	Distribuer 100 µl de solution d'arrêt dans tous les puits
	Lire la densité optique à 450 nm ou 450/620 nm dans les 30 minutes

10. CRITERES DE VALIDATION DU TEST

Lire les densités optiques (D.O) à 450 nm ou à 450/620 nm et soustraire la valeur de D.O du blanc.

- Calcul de la valeur seuil :

  VS = moyenne des CO.

  Aucune valeur ne doit s'écarter de plus ± 25 % par rapport à la valeur moyenne (si analysé en triple), sinon éliminer la valeur aberrante. Recalculer la moyenne.

- Conditions de validation du test :

Pour valider la manipulation, les critères suivants doivent être respectés :
Valeurs des densités optiques :
Blanc <= 0.150
CP / CO > 1,5
CN / CO < 0,6
CO >= 0.200 à 450 nm ou CO >= 0.160 à 450/620 nm.

11. INTERPRETATION DES RESULTATS

Résultats qualitatifs

Calculer le rapport entre la D.O. de l'échantillon et celle de la valeur seuil (Index) :

Index = DO échantillon / DO cut-off

L'échantillon est considéré comme :
Positif : si l'index est supérieur à 1,2
Douteux : si l'index est compris entre 0,8 et 1,2
Négatif : si l'index est inférieur à 0,8

Si le résultat est douteux, répéter le test. Si le résultat est de nouveau douteux, réaliser le test sur un nouveau prélèvement.

12. LIMITES DE LA METHODE

Un sérum obtenu pendant la phase aiguë de l'infection, quand seulement les anticorps IgM sont présents, peut être négatif avec cette méthode.
Le niveau des IgM anti-Varicelle doit être déterminé en utilisant le coffret Platelia™ VZV IgM. Alternativement, un deuxième échantillon prélevé 8-14 jours plus tard, devrait être contrôlé en parallèle pour évaluer l'évolution du titre des anticorps IgG.
Le diagnostic ne doit pas se fonder seulement sur les résultats biologiques, mais doit aussi prendre en compte l'ensemble des données cliniques.

13. SPECIFICITE ANALYTIQUE

La présence des anticorps IgG vers des virus comme l'Epstein Barr, Herpes Simplex, Oreillons, Rougeole, ne cause pas d'interférence avec le test.

14. SENSIBILITE ET SPECIFICITE DIAGNOSTIQUES

Les performance diagnostiques de Platelia™ VZV IgG ont été étudiées sur une population de 47 échantillons en comparaison avec une autre méthode immunoenzymatique. Tous les échantillons discordants ont été analysés avec une méthode d'immunofluorescence comme référence. Les résultats sont reportés dans le tableau ci-dessous :

	REFERENCE	
	+	-
Platelia™ VZV IgG +	29	0
Platelia™ VZV IgG -	3	15

Le kit Platelia™ VZV IgG présente une sensibilité de **90,63%** et une spécificité de **100%**.

15. PRECISION

Reproductibilité intra-essai avec 3 lots différents :

Cut-off n=21	***Lot 029***	***Lot 030***	***Lot 031***
D.O.	0.451	0.457	0.362
CV%	10	7	5

Reproductibilité inter-essai et inter-lots :

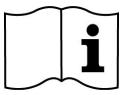
	INDEX				
Echantillons	***Lot 029***	***Lot 030***	***Lot 031***	***Moyenne***	***CV%***
1	*0.3*	*0.4*	*0.3*	*0.3*	*23*
2	*1.5*	*1.0*	*1.7*	*1.7*	*10*
3	*3.0*	*3.0*	*3.3*	*3.1*	*5*

16. EXPERTISE DES CAUSES D'ERREUR

PROBLEME	CAUSES POSSIBLES	SOLUTIONS
Tous les résultats sont négatifs	Absence d'un ou plusieurs réactifs, ou erreur de manipulation dans l'addition des réactifs	Contrôler le protocole. Contrôler s'il y a une solution inutilisée. Refaire le test.
	Plaque non réactive	Contrôler le code imprimé sur le sachet de la plaque (lire les instructions pour l'usage, section 4).
		Contrôler, sur une microplaque inutilisée, si elle a été exposée à l'humidité. (Le gel de silice doit être d'une couleur jaune pâle). Refaire le test.
Tous les résultats sont positifs	Contamination du substrat	Prélever une nouvelle aliquote du substrat.
	Lavage insuffisant	S'assurer que le laveur fonctionne correctement.
Mauvaise précision	Lavage incomplet des puits	S'assurer que le laveur fonctionne correctement.
	Aspiration insuffisante des puits	S'assurer que le laveur fonctionne correctement.
	Erreur de pipetage	S'assurer que la pipette fonctionne correctement.
	Délai trop long pour la distribution des réactifs	Eviter le dessèchement de la plaque après la phase de lavage. Ajouter immédiatement les réactifs.
	Présence de bulles d'air	Eviter la formation des bulles d'air pendant le pipetage.
	Présence d'impuretés sur le parcours optique	Contrôler l'absence d'impuretés sur la source lumineuse et le détecteur. Essuyer le fond de la microplaque avec un chiffon doux.
Développement de la couleur insuffisante	Temps ou température d'incubation incorrects	Vérifier le contrôle de la température et du temps d'incubation.
		Suivre attentivement les instructions d'utilisation.
	Volume de substrat ajouté incorrect	Contrôler le fonctionnement de la pipette.

17. REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. E.H. Wasmuth and W.J. Miller: J. Med. Virology 32: 189 (1990).
2. M.L. Landry, S.D. Cohen, D. Mayo, C. Fong, W. Andiman: J. Clin. Microbiology 25: 832 (1987).
3. P. Larussa, S. Steinberg, et al. J. Clin. Microbiology 25: 2059 (1987).

CE	- Marquage CE (Directive européenne 98/79/CE relative aux dispositifs médicaux de diagnostic in vitro) - Marcado CE (Directiva europea 98/79/CE sobre productos sanitarios para diagnóstico in vitro) - Marchiatura CE (Direttiva europea 98/79/CE relativa ai dispositivi medico-diagnostici in vitro)
IVD	- Pour diagnostic *in vitro* - Para diagnóstico *in vitro* - Per uso diagnostico *in vitro*
	- Fabricant - Fabricante - Produttore
	- Limites de températures de stockage - Temperatura limite - Limiti di temperatura di conservazione
	- Consulter le mode d'emploi - Consulte la instrucción para el uso - Consultare le istruzioni per uso

The other languages which are required in conformity to the European Directive can be obtained from your local Bio-Rad agent.

Les autres langues requises par la Directive Européenne sont disponibles auprès de votre représentant Bio-Rad local.

Los otros idiomas que se requiren para la conformidad de la Directiva Europea puede ser obtenida en su oficina local Biorad.

Die anderen Sprachen, die in Übereinstimmung mit der europäischen IVD Direktive benötigt werden, erhalten Sie über Ihre lokale Bio-Rad Niederlassung.

Le altre lingue che sono richieste in conformità con le Direttive Europee possono essere ottenute dal locale agente Bio-Rad.

As restantes línguas, obrigatórias em conformidade com a Directiva Europeia, podem ser obtidas através da subsidiária Bio-Rad mais próxima de si.

Övriga språk som krävs i enlighet med EG-direktivet kan erhållas från din lokala Bio-Rad-representant.

De øvrige sprog som kræves i henhold til EU direktiv kan fås ved henvendelse til den lokale Bio-Rad leverandør.

Οι υπόλοιπες γλώσσες που απαιτούνται από την Ευρωπαϊκή Οδηγία διατίθενται στον τοπικό αντιπρόσωπο Bio-Rad.

Bio-Rad
3, boulevard Raymond Poincaré
92430 Marnes-la-Coquette France
Tel. : +33 (0)1 47 95 60 00
Fax : +33 (0)1 47 41 91 33

CE
05/2012